

Beiträge zur Kenntnis pflanzlicher Phosphatide.

III. Mitteilung.

Von

E. Winterstein.

(Aus dem agrikultur-chemischen Laboratorium des Eidgen. Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaktion zugegangen am 11. Januar 1909.)

Die neueren Arbeiten über die Phosphatide des Eigelbs¹⁾ haben ergeben, daß die von früheren Autoren aus Eigelb dargestellten Lecithinpräparate nicht einheitliche Substanzen, sondern ein Gemisch verschiedener Phosphatide waren. Das gleiche Ergebnis erhielt A. Erlandsen²⁾ bei Untersuchung der Phosphatide des Myocardiums. Ähnliches muß man auch bei den pflanzlichen Phosphatiden erwarten. Die Mannigfaltigkeit, bei diesen in Äther, Alkohol usw. löslichen, biologisch wichtigen Substanzen, ist vielleicht ebenso groß wie bei den anderen wichtigen Zellbestandteilen: den Eiweißstoffen, Kohlenhydraten und Fetten. Die aus tierischen und pflanzlichen Organen darstellbaren Phosphatide leiten sich wahrscheinlich nicht nur von einer, sondern von verschiedenen Phosphorsäuren ab. Von diesen Phosphorsäurederivaten ist die Glycerinphosphorsäure näher charakterisiert worden, welche in Verbindung mit Stearin Palmitin- und Ölsäure und mit dem Cholin das eigentliche Lecithin bildet. Aber ebenso wie in manchen Fetten der Glycerinrest nicht nur mit einem, sondern mit mehreren Fettsäureradikalen verbunden sein kann, so kann man gleiches auch für die Phosphatide erwarten, und da es ferner sehr wahrscheinlich ist, daß die Phosphatide, ähnlich wie die Fette, ein Gemisch verschiedener Verbindungen darstellen, so erklärt sich ihre große Mannigfaltigkeit. Hierzu kommt noch, daß die Phosphatide allem Anschein nach nicht nur Cholin im Molekül enthalten, sondern auch andere basische und nicht basische Stickstoffverbindungen einschließen können. Wenn man nun ferner berücksichtigt, daß manche Phosphatide auch Kohlenhydrate im Molekül einschließen, so darf man wohl behaupten, daß in vielen Fällen die mit Hilfe von Extraktionsmitteln darstellbaren Phosphatidgemische eine

¹⁾ Stern und Thierfelder, Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 370.

²⁾ A. Erlandsen, Diese Zeitschrift, Bd. LI, S. 78.

viel kompliziertere Zusammensetzung haben müssen als die Fette. Die komplizierte Zusammensetzung erklärt wahrscheinlich auch die Tatsache, daß man krystallisierte Phosphatide nur in seltenen Fällen erhalten kann. Die Untersuchung über die Phosphatide wird durch ihre Veränderlichkeit und auch durch ihr Vermögen, Kolloide und Krystalloide zu adsorbieren oder mit ihnen Verbindungen einzugehen, sehr erschwert. Ob man Phosphatide in gänzlich unverändertem Zustand, wie sie in lebenden Organen vorliegen, darstellen kann, ist nicht ganz sicher.

Will man die Phosphatide in möglichst unverändertem Zustand gewinnen, so erscheint es angezeigt, die Einwirkung höherer Temperaturen, des Lichtes und chemischer Agenzien tunlichst auszuschließen, wie es A. Erlandsen¹⁾ und auch Stern und Thierfelder²⁾ getan haben. Auch wir beabsichtigen, aus einigen Pflanzensamen Phosphatide in möglichst unverändertem Zustand darzustellen und diese sodann näher zu charakterisieren. Wir haben bis jetzt Phosphatide untersucht, bei deren Darstellung die angegebenen Vorsichtsmaßregeln nicht streng eingehalten worden sind, da wir uns hauptsächlich mit den bei der Spaltung auftretenden stickstoffhaltigen Verbindungen und den Kohlenhydraten beschäftigt haben.

Worauf die Veränderungen der Phosphatide beruhen, läßt sich nicht sicher sagen. Bekannt ist bis jetzt nur, daß bei Phosphatiden mit ungesättigten Fettsäuren eine Oxydation erfolgt, die mit einer Abnahme der Jodzahl der Präparate einhergeht.

Die nachstehenden Arbeiten sollen vor allen Dingen darthun, daß die mit Hilfe der bekannten Extraktionsmittel (Alkohol und Äther) dargestellten Phosphatide ein kompliziertes Gemisch verschiedener Verbindungen darstellen.

Manche der in den folgenden Mitteilungen gewonnenen Ergebnisse sind von uns schon vor einigen Jahren erhalten worden. Wir haben mit der Veröffentlichung dieser Resultate gewartet, da wir vor allen Dingen die Frage nach den neben Cholin auftretenden stickstoffhaltigen Verbindungen entscheiden wollten. Für diesen Zweck bedarf es aber großer Mengen von

¹⁾ Ibid.

²⁾ Ibid.

Material. Da nun von verschiedener Seite die Phosphatide bearbeitet werden, so möchten wir unsere Ergebnisse jetzt schon mitteilen, um uns dadurch die weitere Bearbeitung der pflanzlichen Phosphatide zu sichern. Der eine von uns, E. W., hat schon vor zwei Jahren ein eigenartiges, pulverförmiges, nahezu farbloses Phosphatid in einer Sitzung der Züricher chemischen Gesellschaft vorgewiesen und der Hoffnung Ausdruck verliehen, daß man auch pflanzliche Phosphatide krystallisiert erhalten wird. Es ist nun dem Verfasser dieser Abhandlung in der Tat gelungen, durch ein umständliches Verfahren und Umkrystallisieren aus Dichloräthylen eine kleine Menge von Cerealienphosphatid in krystallinischen Zustand überzuführen. Ferner haben E. Winterstein und K. Smolenski ebenfalls aus Cerealien ein krystallinisches Phosphatid erhalten. Dieser Befund wird dann durch die weitere Untersuchung von Smolenski über die Phosphatide aus Weizenkeimen gestützt.

In nachstehendem möchten wir zunächst die Befunde mitteilen, welche wir bei Untersuchung der aus *Lupinus albus* darstellbaren Phosphatide gewonnen haben. Diese Mitteilung bildet eine Fortsetzung der Arbeit von E. Winterstein und O. Hiestand.

Über ein Phosphatid aus *Lupinus albus*.

Von

E. Winterstein und L. Stegmann.

70 kg von der Firma Vilmorin-Andrieux, Paris, bezogene Samen von *Lupinus albus* L. wurden 24 Stunden bei 50—60° getrocknet und dann gemahlen. Das gepulverte Material wurde dann noch 24 Stunden bei 40° getrocknet. Der Rückstand, welcher ca. 59 kg wog, mit 300 g frischgefälltem, getrocknetem Calciumcarbonat gemischt, um die Einwirkung von sauer reagierenden Stoffen bei der Extraktion auszuschalten. Nun wurde sie erst mit Äther möglichst vollständig entfettet. Der dabei verbliebene Rückstand wurde mit 95%igem Alkohol extrahiert. Es wurden auf diese Weise 15 l alkoholischer Extrakt gewonnen. Aus dieser alkoholischen Flüssigkeit schieden sich ca. 500 g einer salbenartigen Masse aus, welche als «alkoholschwerlösliches Phosphatid» bezeichnet wird. Dieses Rohprodukt gab nach dem

Behandeln mit Aceton eine fast weiße, körnige Masse. Das Präparat enthielt: 2,63 % P und 1,10 % N. Beim Kochen mit 5 % iger Salzsäure wurden ca. 14 % Glukosen (berechnet als d-Glukose) gewonnen.

Dieses Rohprodukt schließt neben einem Phosphatid noch eine kleine Menge anderer Substanzen ein. Wir glauben aber durch die folgenden Belege den Beweis erbringen zu können, daß sich aus diesem Rohmaterial ein einheitlicher Körper gewinnen läßt.

Behufs Darstellung desselben verfahren wir wie folgt: Das Rohphosphatid wurde in der Kälte mit Alkohol verrieben und im Vakuumexsikkator vollständig getrocknet. Davon lösten wir 100 g in Äther, ließen die ätherische Lösung stehen, bis vollständige Klärung eingetreten war. Die klare ätherische Lösung gossen wir in 12 l Wasser, wobei eine kolloidale Lösung entstand; behufs Abscheidung des Phosphatids fügten wir soviel verdünnte Schwefelsäure hinzu, bis eben eine Ausflockung begann. Nun wurde die Flüssigkeit tüchtig umgerührt, wobei eine schwach gelbgefärbte Ausscheidung und eine nahezu klare Flüssigkeit resultierte. Die Ausscheidung wurde auf Filtern gesammelt und auf diese Weise möglichst von der Flüssigkeit getrennt. Sodann wurde die gallertartige Masse mit viel Äther geschüttelt, wobei eine gleichartige Emulsion auftrat. Diese wurde in mehreren Scheidetrichtern verteilt und Natriumsulfat hinzugefügt. Es trat hierbei eine Trennung in zwei scharfe Schichten ein. Die ätherische Lösung wurde mit Natriumsulfat getrocknet, die filtrierte ätherische Lösung durch Destillation vom Äther befreit. Der Verdampfungsrückstand, eine schwach hellgelb gefärbte Masse, wurde in absolutem Äther gelöst, wobei sich merkwürdigerweise nach längerem Stehen im Dunkeln feine, lange Nadeln von Natriumsulfat ausschieden, ein Beweis, wie selbst im wasserfreien Äther die Phosphatide andere Stoffe adsorbieren können. Die ätherische Lösung wurde nun verdunstet. Der Rückstand im Vakuum vollständig getrocknet und in frisch bereitetem, mit Natrium getrocknetem Äther aufgelöst. Diese ätherische Lösung wurde eine Woche in hohen, gut verschließbaren Gläsern aufbewahrt, wobei sie sich vollständig

klärte. Am Boden hatte sich eine weiße, organische Substanz ausgeschieden; die davon getrennte ätherische Lösung wurde konzentriert und in drei Fraktionen mit Methylacetat gefällt. Es resultierten nahezu weiße Fällungen, welche von den Flüssigkeiten durch Absaugen rasch getrennt, mit Methylacetat ausgewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet wurden.¹⁾ Man erhält so ein eigentümlich riechendes, weißes, leicht zerreibliches, hygroskopisches Pulver, welches sich nach längerem Aufbewahren nur unvollständig in Äther wieder auflöst. Es gibt bei der Spaltung mit Schwefelsäure Galaktose neben anderen Glukosen. Da die drei erhaltenen Fraktionen im Stickstoff-, Phosphor- und Kohlenhydratgehalt sehr nahe übereinstimmen, so darf man wohl annehmen, daß es sich um ein einigermaßen einheitliches Kohlenhydratphosphatid handelt. Mit Rücksicht auf den Stickstoff-, Phosphor- und Kohlenhydratgehalt könnte es als eine Verbindung von eigentlichem Lecithin mit Kohlenhydratresten aufgefaßt werden.

Die drei erhaltenen Präparate wurden behufs Analyse im Wasserstoffstrom im kochenden Wasserbade getrocknet, bis nahezu Gewichtskonstanz eingetreten war. Der Phosphorgehalt wurde durch Verbrennen mit Salpeter und Soda ermittelt und die Phosphorsäure nach der Molybdänmethode bestimmt. Die Stickstoffbestimmungen wurden nach Dumas ausgeführt, auch haben wir einige Resultate mit der Kjeldahlschen Methode kontrolliert und sehr gute Übereinstimmung gefunden. Der Kohlenhydratgehalt wurde aus dem Kupferoxydulniederschlag berechnet, da wir uns überzeugt hatten, daß die berechnete Kupfermenge mit der bei der Reduktion erhaltenen meistens sehr gut übereinstimmt.

	P	N	Kohlenhydrat
Präparat I ²⁾	3,62%	0,98%	16,61%
„ II	3,59%	0,90%	16,1%
„ III	3,67%	0,93%	15,7%

¹⁾ Die ätherische Methylacetatlösung enthält noch etwas Phosphatid.

²⁾ E. Schulze und E. Winterstein haben aus Lupinensamen ein in Alkohol schwerlösliches Phosphatid hergestellt, dessen Phosphorgehalt 3,64% betrug. Diese Zeitschrift, Bd. XL, S. 112.

I. Fraktion.

Das Präparat enthält 3,62% Phosphor und 0,98% Stickstoff. Beim Kochen (5 Stunden) mit 5%iger Schwefelsäure entstehen 16,61% Zucker, berechnet als Dextrose. Die Abspaltung des Kohlenhydratkomplexes erfolgt erst allmählich. Nach einstündigem Kochen fanden wir 10,5% Zucker.

0,2138 g Substanz gaben 0,0210 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ = 3,55% P
 0,2130 „ „ „ 0,0216 „ „ = 3,65% „
 0,6096 „ Trockensubstanz gaben 5,2 ccm Gas bei 731 mm u. $16,5^\circ$ = 0,93% N
 0,3858 „ „ „ 3,8 „ „ „ 710 „ „ 20° = 1,04% „
 1,0456 „ „ mit 100 ccm 5%iger Schwefelsäure 5 Stunden
 gekocht. Je 20 ccm davon gaben I. 0,0678 g Cu, II. 0,0682 mg Cu,
 III. 0,068 mg Cu = 16,61% Dextrose.

II. Fraktion.

Das Präparat enthält 3,59% Phosphor und 0,9% Stickstoff. Beim Kochen mit 5%iger Schwefelsäure entstehen 16,1% Zucker.

0,3217 g Trockensubstanz gaben 0,0416 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ = 3,59% P.
 0,5410 „ „ „ 4,4 ccm Gas bei 17° u. 716 mm = 0,90% N.
 0,7126 „ „ mit 100 ccm 5%iger Schwefelsäure 4 Stunden
 gekocht. Je 20 ccm davon gaben I. 0,0350 g Cu, II. 0,0332 g Cu = 16,1% Zucker.

III. Fraktion.

Dieses Präparat enthält 3,67% Phosphor und 0,93% Stickstoff. Beim Kochen mit 5%iger Schwefelsäure werden 15,7% Zucker gebildet.

0,4763 g Trockensubstanz gaben 0,0629 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ = 3,67% P.
 0,5522 „ „ „ 5 ccm Gas bei 17° u. 716 mm = 0,96% N.
 1,0800 „ „ „ 8,8 „ „ „ 17° „ 731 „ = 0,90% „
 1,1175 „ „ wurden mit 100 ccm 5%iger Schwefelsäure
 4 Stunden gekocht. Je 20 ccm davon gaben
 I. 0,0676 g Cu, II. 0,067 g Cu = 15,41%.
 0,7938 „ „ mit 100 ccm 5%iger Schwefelsäure 5 Stunden
 gekocht. 20 ccm davon gaben 0,0439 g Cu = 16,0% Zucker.

Es wird nun die nächste Aufgabe sein, die Spaltungsprodukte dieses Phosphatides näher kennen zu lernen und die Ursachen der Veränderlichkeit in der Löslichkeit festzustellen.